



Antimicrobial activity of oregano essential oils against *Pseudomonas aeruginosa*: review of potential applications

Actividad antimicrobiana de aceites esenciales de orégano contra *Pseudomonas aeruginosa*: revisión de aplicaciones potenciales

^{ORCID} Herly A. Medina-Chuc¹; ^{ORCID} Luz M. Calvo-Irabien² ;
^{ORCID} Adrián A. Ruiz-Sierra¹; ^{ORCID} Arturo A. Alvarado-Segura^{1*}

¹Tecnológico Nacional de México/Campus Sur del Estado de Yucatán. Carretera Muna-Felipe Carrillo Puerto, tramo Oxkutzcab-Akil, km 41+400. C. P. 97880. Oxkutzcab, Yucatán, México.

²Centro de Investigación Científica de Yucatán, Unidad de Recursos Naturales. Calle 43 núm. 130 x 32 y 34, col. Chuburná de Hidalgo. C. P. 97205. Mérida, Yucatán, México.

*Corresponding author: aalvarado@suryucatan.tecnm.mx

Abstract

Introduction. Oregano species represent a non-timber forest resource of high economic importance. Their essential oils are widely used due to their bioactive compounds, which are associated with antimicrobial properties.

Objective. To compare and synthesize the available evidence on the antimicrobial activity of essential oils derived from *Origanum vulgare* L. and *Lippia origanoides* Kunth, to assess their potential applications for the control of *Pseudomonas aeruginosa* in the food industry and in contexts related to public health services.

Materials and methods. Articles published primarily between 2015 and 2025 that evaluated the antimicrobial activity of essential oils from *O. vulgare* and *L. origanoides* against *P. aeruginosa* were reviewed.

Results. Oregano essential oils predominantly contain thymol and carvacrol, compounds responsible for their antimicrobial activity. Their concentration depends on genetic and environmental factors, which in turn influence their efficacy. The literature indicates that thymol and carvacrol are associated with the inhibition of biofilm formation, highlighting their potential as alternatives for microbial control on surfaces in the food industry and in public health service settings.

Conclusions. The essential oils of *L. origanoides* and *O. vulgare*, rich in thymol and carvacrol, inhibit the adhesion and biofilm formation of *P. aeruginosa*. However, further studies are required to evaluate their cytotoxicity and to determine optimal concentrations for practical use.

Keywords: carvacrol, *Lippia origanoides*, *Origanum vulgare*, *Pseudomonas aeruginosa*, thymol.

Resumen

Introducción. Las especies de orégano constituyen un recurso forestal no maderable con alta importancia económica. Sus aceites esenciales son utilizados ampliamente debido a sus compuestos bioactivos que se asocian con propiedades antimicrobianas.

Objetivo. Comparar y sintetizar la evidencia sobre la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de *Origanum vulgare* L. y *Lippia origanoides* Kunth, con el fin de valorar su aplicación potencial para el control de *Pseudomonas aeruginosa* en la industria alimentaria y en contextos relacionados con los servicios de salud pública.

Materiales y métodos. Se revisaron artículos mayoritariamente publicados entre 2015 y 2025 que evalúan la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de *O. vulgare* y *L. origanoides* contra *P. aeruginosa*.

Resultados. Los aceites esenciales de orégano contienen principalmente timol y carvacrol, compuestos responsables de su actividad antimicrobiana. La concentración de estos depende de factores genéticos y ambientales, lo que influye en su eficacia. La literatura indica que el timol y el carvacrol están asociados con la inhibición de la formación de biopelículas, lo que resalta su potencial como alternativas para el control microbiano en superficies de la industria alimentaria y de servicios de salud pública.

Conclusiones. Los aceites esenciales de *L. origanoides* y *O. vulgare*, ricos en timol y carvacrol, inhiben la adhesión y formación de biopelículas de *P. aeruginosa*; sin embargo, es necesario evaluar su citotoxicidad y determinar concentraciones óptimas aceptables para su uso.

Palabras clave: carvacrol, *Lippia origanoides*, *Origanum vulgare*, *Pseudomonas aeruginosa*, timol.

Please cite this article as follows (APA 7): Medina-Chuc, H. A., Calvo-Irabien, L. M., Ruiz-Sierra, A. A., & Alvarado-Segura, A. A. (2026). Antimicrobial activity of oregano essential oils against *Pseudomonas aeruginosa*: review of potential applications. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 32, e25011. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2025.03.011>



Introduction

The use of conventional preservatives has been effective in reducing microbial contamination; however, their potential impacts on human health and the increasing development of bacterial resistance have prompted the search for alternatives that are more compatible with human health and the environment (Chouhan et al., 2017; Kumari et al., 2019). In this context, essential oils have emerged as promising alternatives due to their complex chemical composition, which is primarily responsible for their antimicrobial and antioxidant properties (Butnariu, 2021; Garcia-Alor et al., 2023; Pinheiro et al., 2017).

Oregano species represent a non-timber forest resource of high economic importance. Among the most relevant species are *Origanum vulgare* L. (European oregano) and *Lippia origanoides* Kunth (American oregano), whose essential oils are widely used in the food industry. Specifically, the essential oil of *O. vulgare*, in addition to its culinary and traditional medicinal uses, has antioxidant and antibacterial properties that make it suitable for preserving physicochemical and sensory characteristics, especially in meat products (Chouhan et al., 2017; Garcia-Alor et al., 2023; Nicuță et al., 2024; Šojić et al., 2023). *L. origanoides* –currently the accepted name for the species formerly referred to as *L. graveolens* Kunth– is one of the most common oregano species in Mexico (Calvo-Irabién & Carnevalli Fernández-Concha, 2021). The chemical composition of its essential oil, similar to that of *O. vulgare* (Cid-Pérez et al., 2019; Zapién-Chavarría et al., 2019), varies depending on the soil conditions of the region where it grows (Calvo-Irabién et al., 2014). In addition to its gastronomic and cultural uses, scientific interest in this species lies in the antimicrobial potential of its essential oil to inhibit the growth of pathogenic microorganisms in foods.

Contamination by pathogenic microorganisms is one of the leading causes of foodborne diseases (World Health Organization [WHO], 2024). Throughout the production chain (transportation, storage, handling, processing and packaging) multiple critical points facilitate the proliferation and dissemination of these agents (Onyeaka et al., 2024; Yun et al., 2018). Inadequate management of the cold chain compromises food safety during storage and transportation, leading to the deterioration or loss of up to one-third of perishable products such as meat, dairy, fish, fruits, and vegetables (De Jonghe et al., 2011). Globally, food loss and waste account for nearly 20 % of total production, equivalent to approximately 1.05 billion tons per year (United Nations Environment Programme [UNEP], 2024).

In this context, *Pseudomonas aeruginosa* is a Gram-negative bacterium considered a critical food contaminant, especially in refrigerated products such

Introducción

El uso de conservantes sintéticos ha resultado efectivo para reducir la contaminación microbiana; sin embargo, su impacto en la salud y el aumento en el desarrollo de resistencia bacteriana han motivado la búsqueda de alternativas más amigables con el ser humano y el ambiente (Chouhan et al., 2017; Kumari et al., 2019). En este sentido, los aceites esenciales se presentan como opciones prometedoras, debido a su composición química compleja, responsable principalmente de sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes (Butnariu, 2021; Garcia-Alor et al., 2023; Pinheiro et al., 2017).

Las especies de orégano constituyen un recurso forestal no maderable con alta importancia económica. Entre las especies más relevantes destacan *Origanum vulgare* L. (orégano europeo) y *Lippia origanoides* Kunth (orégano americano), cuyos aceites esenciales son utilizados ampliamente en la industria alimentaria. En particular, el aceite esencial de *O. vulgare*, además de sus usos culinarios y en la medicina tradicional, posee propiedades antioxidantes y antibacterianas que lo hacen adecuado como conservante de las características fisicoquímicas y sensoriales, especialmente en productos cárnicos (Chouhan et al., 2017; Garcia-Alor et al., 2023; Nicuță et al., 2024; Šojić et al., 2023). Por su parte, *L. origanoides* –nombre aceptado en la actualidad para la especie anteriormente denominada *L. graveolens* Kunth– es una de las especies de orégano más comunes en México (Calvo-Irabién & Carnevalli Fernández-Concha, 2021). La composición química de su aceite esencial, similar a la de *O. vulgare* (Cid-Pérez et al., 2019; Zapién-Chavarría et al., 2019), varía en función de las condiciones edafoclimáticas de la región donde crece (Calvo-Irabién et al., 2014). Además de su uso gastronómico y cultural, el interés científico en esta especie radica en el potencial antimicrobiano de su aceite esencial para inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos en alimentos.

La contaminación por microorganismos patógenos constituye una de las principales causas de enfermedades transmitidas por los alimentos (World Health Organization [WHO], 2024). A lo largo de la cadena productiva (transporte, almacenamiento, manipulación, procesamiento y envasado) existen múltiples puntos críticos que favorecen la multiplicación y dispersión de estos agentes (Onyeaka et al., 2024; Yun et al., 2018). La gestión inadecuada de la cadena de frío compromete la inocuidad de los alimentos durante su almacenamiento y transporte, provocando el deterioro o pérdida de hasta un tercio de los productos perecederos como carnes, lácteos, pescados, frutas y hortalizas (De Jonghe et al., 2011). A nivel global, las pérdidas y desperdicios de alimentos alcanzan cerca del 20 % de la producción, lo que

as milk, meat, and fish, due to its ability to proliferate at low temperatures and under high water activity ($aw \geq 0.98$) (Alexandre et al., 2025; Li et al., 2023). In dairy products, *Pseudomonas* can account for up to 90 % of the psychrotrophic microbiota and can withstand thermal processes such as pasteurization or ultra-high temperature (UHT) treatment, enabling them to persist and colonize processing surfaces (De Jonghe et al., 2011; Luciardi et al., 2021). Moreover, the production of extracellular enzymes such as proteases and lipases contributes to the sensory and physical deterioration of foods, generating off-flavors, pigmentation, gelation, and mucilage formation that affect both product quality and production yield (Alexandre et al., 2025; De Jonghe et al., 2011; Luciardi et al., 2021). In addition, *P. aeruginosa* forms biofilms on equipment, tanks, and pipelines, which complicates its removal and promotes its persistence in industrial environments (Alexandre et al., 2025; Li et al., 2023). From a public health perspective, *P. aeruginosa* represents a significant risk, as it is implicated in opportunistic infections such as pneumonia and urinary tract infections (Alexandre et al., 2025; De Jonghe et al., 2011; Luciardi et al., 2021). The semipermeable outer membrane of *P. aeruginosa*, together with specialized transport systems, confers high resistance to antibiotics, which has led to its classification as a priority pathogen by the World Health Organization (Reyes-Jurado et al., 2020; WHO, 2024; Yin et al., 2024).

Considering the dual role of *P. aeruginosa* as a food spoilage microorganism and a pathogen of public health importance, the evaluation of natural alternatives such as oregano essential oils is relevant, given their documented antimicrobial activity against this bacterium. Accordingly, the objective of this study was to compare and synthesize the available scientific evidence on the antimicrobial activity of the essential oils of *O. vulgare* and *L. origanoides* against *P. aeruginosa*, to assess their potential application in the food industry and public health-related contexts.

Materials and Methods

This review was based on the compilation of information primarily from scientific articles, 81 % of which were published between 2015 and 2025 in indexed journals. Searches were conducted using the platforms Google Scholar, Web of Science and American Chemical Society (ACS), using the following keywords (in Spanish and English): oregano essential oil, antimicrobial activity, carvacrol, cytotoxicity, natural preservatives, biofilm formation, food industry, *Lippia origanoides*, *Origanum vulgare*, *Pseudomonas aeruginosa*, bacterial resistance, and thymol. The first stage of the study consisted of analyzing the collected information, including reviewing the abstracts of each

equivala a 1 050 millones de toneladas anuales (United Nations Environment Programme [UNEP], 2024).

En este marco, *Pseudomonas aeruginosa* es una bacteria Gram negativa reconocida como contaminante crítico en alimentos, especialmente en productos refrigerados como leche, carne y pescados, debido a su capacidad de proliferar en condiciones de temperaturas bajas y alta actividad de agua ($aw \geq 0.98$) (Alexandre et al., 2025; Li et al., 2023). En productos lácteos, las especies de *Pseudomonas* pueden representar hasta 90 % de la microbiota psicrotrofica, resistiendo procesos térmicos como la pasteurización o el UHT (ultra alta temperatura), lo que les permite persistir y colonizar superficies de procesamiento (De Jonghe et al., 2011; Luciardi et al., 2021). Además, la producción de enzimas extracelulares como proteasas y lipasas contribuye al deterioro sensorial y físico de los alimentos, la cual genera sabores desagradables, pigmentación, gelificación y formación de mucílago que afectan la calidad y el rendimiento productivo (Alexandre et al., 2025; De Jonghe et al., 2011; Luciardi et al., 2021). Asimismo, *P. aeruginosa* forma biopelículas en equipos, tanques y tuberías, lo que dificulta su eliminación y favorece su persistencia en ambientes industriales (Alexandre et al., 2025; Li et al., 2023). Desde el punto de vista sanitario, *P. aeruginosa* representa un riesgo significativo al estar implicada en infecciones oportunistas como neumonía e infecciones urinarias (Alexandre et al., 2025; De Jonghe et al., 2011; Luciardi et al., 2021). La membrana externa semipermeable de *P. aeruginosa*, junto con sistemas de transporte especializados, le confiere alta resistencia a los antibióticos, lo que ha llevado a su clasificación como patógeno prioritario por la Organización Mundial de la Salud (Reyes-Jurado et al., 2020; WHO, 2024; Yin et al., 2024).

Dado el impacto dual de *P. aeruginosa* como agente de deterioro de alimentos y patógeno de importancia en salud pública, resulta pertinente evaluar alternativas naturales como los aceites esenciales de orégano, cuya actividad antimicrobiana frente a dicha bacteria ha sido documentada. En este contexto, el objetivo de este trabajo fue comparar y sistematizar la evidencia científica sobre la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de *O. vulgare* y *L. origanoides* contra *P. aeruginosa*, con el fin de valorar su aplicación potencial en la industria alimentaria y en escenarios relacionados con la salud pública.

Materiales y métodos

La investigación documental se basó en la recopilación de información proveniente principalmente de artículos científicos, de los cuales 81 % fueron publicados de 2015 a 2025 en revistas indexadas.

article and extracting relevant data from tables and figures to identify key subtopics related to the research topic. Subsequently, the information associated with the antimicrobial activity of the two oregano species against *P. aeruginosa* was synthesized.

The inclusion criteria comprised studies addressing the following topics: (1) chemical characterization of the essential oil, including its major compounds (thymol and carvacrol) and chemotypes; (2) antimicrobial assays against *P. aeruginosa* using comparable metrics such as minimum inhibitory concentration (MIC), percentages of adhesion inhibition or biofilm formation inhibition, as well as exposure conditions and times; and (3) biofilm models on surfaces and, when available, in food-relevant matrices with functional analyses associated with efficacy. The extracted data included chemical composition (% thymol, carvacrol and other monoterpenes), analytical methods employed (hydrodistillation, GC-MS), the strain evaluated (ATCC/CIP or food isolates), percentages of biofilm inhibition at different concentrations, and observations regarding synergistic effects or limitations. Safety considerations (cytotoxicity) were also recorded to estimate the applicability of these compounds in the food industry. This approach enabled a systematic comparison of the available evidence and the synthesis of patterns linking composition and activity, mechanisms of action, and relevant gaps for their practical application in the food industry.

Results and Discussion

Chemical composition of oregano essential oils

The antimicrobial activity of essential oils is attributed to their complex chemical composition, characterized by the presence of terpenoids, phenylpropanoids, aldehydes, and phenolic acids. This activity is determined by the presence of major compounds with bioactive properties. Additionally, physicochemical factors such as solubility influence their ability to interact with bacterial cellular structures (De Almeida et al., 2022). Nevertheless, the mechanisms of action of essential oils remain under study due to the complexity and diversity of their components. In this context, antimicrobial activity is thought to result from the combined action of major compounds and synergistic interactions among secondary metabolites, which enhance their efficacy (Chouhan et al., 2017; Froiio et al., 2019; Uc-Cachón et al., 2024).

Several authors have characterized the chemical composition of *O. vulgare* and *L. origanoides* (Table 1), identifying their components and relative percentages. In all cases, essential oils were extracted by hydrodistillation, and gas chromatography-mass spectrometry was used for the separation and

Las búsquedas se hicieron en las plataformas Google Académico, Web of Science y American Chemical Society (ACS), utilizando las siguientes palabras clave (en español y en inglés): aceite esencial de orégano, actividad antimicrobiana, carvacrol, citotoxicidad, conservantes naturales, formación de biopelículas, industria alimentaria, *Lippia origanoides*, *Origanum vulgare*, *Pseudomonas aeruginosa*, resistencia bacteriana y timol. La primera etapa de la investigación consistió en el análisis de la información recopilada, que incluyó la revisión de los resúmenes de cada artículo y la extracción de datos relevantes de cuadros y figuras, con el fin de identificar subtemas clave relacionados con el tema de estudio. Posteriormente, se sintetizó la información vinculada a la actividad antimicrobiana de las dos especies de orégano contra *P. aeruginosa*.

Los criterios de inclusión abarcaron estudios con las temáticas siguientes: (1) identificación química del aceite esencial, sus compuestos mayoritarios (timol y carvacrol) y quimiotipos; (2) ensayos antimicrobianos contra *P. aeruginosa* con métricas comparables como concentración mínima inhibitoria (CMI), porcentajes de inhibición de adhesión o de formación de biopelículas, así como condiciones y tiempos de exposición; y (3) modelos de biopelícula en superficies y, cuando estuvo disponible, en matrices de interés alimentario con análisis funcionales asociados a la eficacia. Los datos extraídos incluyeron la composición química (% de timol, carvacrol y otros monoterpenos), los métodos analíticos empleados (hidrodestilación, CG-EM), las cepas evaluadas (ATCC/CIP o aislados de alimentos), los porcentajes de inhibición de biopelículas a varias concentraciones y observaciones sobre sinergias o limitaciones. Asimismo, se registraron consideraciones de seguridad (citotoxicidad) para estimar la aplicabilidad en la industria alimentaria. Este enfoque permitió la comparación sistemática de la evidencia disponible y la síntesis de patrones de relación composición-actividad, mecanismos de acción y brechas relevantes para su aplicación práctica en la industria alimentaria.

Resultados y discusión

Composición química de los aceites esenciales de orégano

La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales se atribuye a su composición química compleja, caracterizada por la presencia de terpenoides, fenilpropanoides, aldehídos y ácidos fenólicos. En particular, esta actividad está determinada por la presencia de compuestos mayoritarios con propiedades bioactivas. Adicionalmente, factores fisicoquímicos como la solubilidad afectan su capacidad de interactuar con las estructuras celulares bacterianas (De Almeida et al., 2022). No obstante, los mecanismos de acción

Table 1. Relative concentration of the major chemical compounds in oregano essential oils, expressed as a percentage (%) of the chromatographic peak area.**Cuadro 1. Concentración relativa de los compuestos químicos mayoritarios de aceites esenciales de orégano, expresada como porcentaje (%) del área del perfil cromatográfico.**

| Species / Especie | <i>p</i> -cymene / <i>p</i> -cimeno | Linalool | Sabinene / Sabineno | β -caryophyllene / β -cariofileno | Caryophylla- 4(12),8(13)-dien-5 α -ol | Thymol / Timol | Carvacrol |
|---|--|----------|------------------------|--|---|-------------------|-----------|
| <i>Origanum vulgare</i> ¹ | 16.25 | 2.16 | – | 0.93 | – | 12.06 | 32.36 |
| <i>O. vulgare</i> ² | – | 1.93 | – | 6.32 | – | 5.66 | 53.76 |
| <i>O. vulgare</i> ^{3*} | 2.60 | <0.05 | <0.05 | 0.40 | – | 0.30 | 86.00 |
| | 0.20 | 84.70 | 0.10 | 1.50 | – | <0.05 | 4.70 |
| | 5.10 | 0.60 | 0.40 | 9.30 | – | 26.50 | – |
| <i>O. vulgare</i> subsp. <i>vulgare</i> ^{4*} | 2.05 | 3.35 | 25.91 | 14.80 | – | 1.13 | 1.78 |
| | 4.54 | 15.97 | 7.41 | 20.12 | – | 1.45 | 0.79 |
| | 8.55 | 32.12 | 6.47 | 3.54 | – | 1.36 | 0.73 |
| <i>O. vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> ^{5*} | 4.40 | 0.50 | – | 0.60 | – | 61.90 | 15.10 |
| | 12.00 | 0.60 | 0.10 | 0.80 | – | 52.90 | 1.20 |
| | 4.40 | 0.90 | 0.10 | 1.00 | – | 57.10 | 0.80 |
| <i>Lippia origanoides</i> ^{6*} | – | 0.26 | – | 2.45 | 19.9 | 4.16 | 1.24 |
| | 0.96 | 0.72 | – | 1.45 | 0.15 | 6.18 | 78.50 |
| | 1.28 | 0.59 | – | 1.21 | 0.08 | 88.47 | 0.44 |
| <i>L. origanoides</i> ^{7*} | 13.00 | – | – | – | – | 11.00 | 40.00 |
| | 9.00 | – | – | – | – | 56.00 | – |
| | 12.00 | – | – | – | – | – | – |
| <i>L. origanoides</i> ⁸ | 13.78 | 0.97 | 0.20 | 3.70 | – | 11.27 | 25.19 |

Sources: ¹Akkaoui et al. (2020), ²De Almeida et al. (2022), ³Lukas et al. (2015), ⁴Kosakowska and Czupa (2018), ⁵Schillaci et al. (2013), ⁶Calvo-Irabién et al. (2014), ⁷Stashenko et al. (2010) and ⁸Medina-Romero et al. (2021). – compound not detected. Studies marked with the symbol * show samples with contrasting values of the major compounds in the essential oil of the same species.

Fuentes: ¹Akkaoui et al. (2020), ²De Almeida et al. (2022), ³Lukas et al. (2015), ⁴Kosakowska y Czupa (2018), ⁵Schillaci et al. (2013), ⁶Calvo-Irabién et al. (2014), ⁷Stashenko et al. (2010) y ⁸Medina-Romero et al. (2021). – compuesto no detectado. Los trabajos señalados con el símbolo * presentan muestras con valores contrastantes de los compuestos mayoritarios en el aceite esencial de la misma especie.

identification of the compounds. It should be noted that the collection site or origin of the essential oil differed in each case.

The major compounds of oregano essential oil were carvacrol, thymol, linalool, and sabinene (Table 1). The composition of the essential oil is dominated by oxygenated monoterpenes, with carvacrol or thymol being the predominant metabolites in 72 % of the studies analyzed. The average thymol content in *O. vulgare* was 18.44 % and in *L. origanoides* was 25.30 %. Similarly, the average carvacrol content was 17.93 % in *O. vulgare* and 20.76 % in *L. origanoides* (Table 1). The presence of chemotypes in oregano species, both European and American, is common (Calvo-Irabién et al., 2014; Kosakowska & Czupa et al., 2018; Lukas et al., 2015).

The variability in the chemical composition of essential oils is attributed to both external and internal factors affecting the plant. External factors include climate, soil, temperature, humidity, extraction method, and agronomic management; the extraction method

de los aceites esenciales continúan siendo objeto de investigación, debido a la complejidad y diversidad de sus componentes. En este contexto, se ha propuesto que su actividad antimicrobiana resulta de la acción combinada de los compuestos mayoritarios y de interacciones sinérgicas entre metabolitos secundarios, lo que contribuye a potenciar su eficacia (Chouhan et al., 2017; Froiio et al., 2019; Uc-Cachón et al., 2024).

Varios autores han caracterizado la composición química de *O. vulgare* y *L. origanoides* (Cuadro 1) e identificado sus componentes y porcentajes relativos. En todos los casos, el método de extracción empleado fue la hidrodestilación y se utilizó el método de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas para la separación e identificación de dichos compuestos. Se destaca que el lugar de recolección o la procedencia del aceite esencial difieren en cada caso.

Los compuestos mayoritarios del aceite esencial de orégano fueron carvacrol, timol, linalool y sabineno (Cuadro 1). La composición del aceite esencial está dominada por monoterpenos oxigenados, siendo el

significantly influences the composition, because temperature and pressure conditions may degrade or modify chemical compounds. Internal factors include the phenological stage, genetic variations, and the plant part used (Bautista-Hernández et al., 2021; Butnariu, 2021; De Falco et al., 2014). The latter is crucial, since essential oils are unevenly distributed in leaves, flowers, and other plant organs, which affects the proportion of compounds such as monoterpenes and sesquiterpenes (Stefanaki & van Andel, 2021). The literature suggests that the highest concentrations of the phenols carvacrol and thymol in *O. vulgare* essential oils are obtained during the flowering stage (Béjaoui et al., 2013; Bouyahya et al., 2017; De Falco et al., 2014). This variability directly influences the antibacterial activity of the essential oil (Bautista-Hernández et al., 2021; Butnariu, 2021; Reyes-Jurado et al., 2020). The antimicrobial activity of essential oils from *O. vulgare* and *L. origanoides* is mainly attributed to carvacrol and thymol, whereas other compounds such as β -caryophyllene and p-cymene contribute to a lesser extent to this activity (Bautista-Hernández et al., 2021; Reyes-Jurado et al., 2020).

Effect of thymol and carvacrol on *Pseudomonas aeruginosa*

Carvacrol and thymol show strong antimicrobial activity against *P. aeruginosa* and *Salmonella typhimurium* (Kachur & Suntres, 2019). One possible mechanism of action is based on the hydrophobicity of carvacrol and thymol, which facilitates their interaction with the lipids of the bacterial cell membrane and mitochondria (Butnariu, 2021; Kachur & Suntres, 2019). This interaction leads to disruption of the membrane structure, increasing its permeability and causing leakage of cellular contents, as well as facilitating the entry of antibiotics and other molecules. In addition, a reduction in cytoplasmic pH, decreased ATP synthesis, and changes in membrane potential occur, ultimately leading to bacterial cell death (Butnariu, 2021; Kachur & Suntres, 2019).

One of the characteristic mechanisms of *P. aeruginosa* that contributes to its high tolerance to antibiotics is the formation of biofilms (Luciardi et al., 2021; Thi et al., 2020). These are complex structures formed by bacterial communities embedded in a polymeric matrix, which provides mechanical and biochemical protection and creates an environment that reduces the effectiveness of antimicrobial agents. Biofilms can develop on a wide variety of surfaces and are particularly relevant on surfaces such as pipelines, conveyor belts, and production equipment in the food industry, as well as on medical devices or biological tissues (Alexandre et al., 2025; Jannat et al., 2023; Singh et al., 2017).

carvacrol o el timol los metabolitos mayoritarios en 72 % de los estudios analizados. El contenido promedio de timol en *O. vulgare* fue 18.44 % y en *L. origanoides* fue 25.30 %, mientras que el contenido promedio de carvacrol fue 17.93 % en *O. vulgare* y 20.76 % en *L. origanoides* (Cuadro 1). La presencia de quimiotipos en las especies de orégano, tanto europeo como americano, es frecuente (Calvo-Irabién et al., 2014; Kosakowska & Czupa et al., 2018; Lukas et al., 2015).

La variabilidad en la composición química de los aceites esenciales se debe a factores externos e internos de la planta. Entre los externos se encuentran el clima, suelo, temperatura, humedad, método de extracción y manejo agronómico; el método de extracción influye significativamente en la composición, ya que las condiciones de temperatura y presión pueden degradar o modificar compuestos químicos. Los factores internos incluyen el estado fenológico, las variaciones genéticas y la parte de la planta utilizada (Bautista-Hernández et al., 2021; Butnariu, 2021; De Falco et al., 2014). Esta última es crucial, ya que los aceites esenciales se distribuyen de manera desigual en hojas, flores u otros órganos, lo que afecta la proporción de compuestos como monoterpenos y sesquiterpenos (Stefanaki & van Andel, 2021). La literatura sugiere que la mayor concentración de los fenoles carvacrol y timol en los aceites esenciales de *O. vulgare* se obtiene durante la floración (Béjaoui et al., 2013; Bouyahya et al., 2017; De Falco et al., 2014). Esta variabilidad impacta directamente en la actividad antibacteriana del aceite esencial (Bautista-Hernández et al., 2021; Butnariu, 2021; Reyes-Jurado et al., 2020). La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de *O. vulgare* y *L. origanoides* se debe principalmente al carvacrol y el timol, mientras que otros compuestos como el β -cariofileno y p-cimeno contribuyen menos a esta actividad (Bautista-Hernández et al., 2021; Reyes-Jurado et al., 2020).

Efecto del timol y carvacrol sobre *Pseudomonas aeruginosa*

El carvacrol y el timol poseen una fuerte acción antimicrobiana contra *P. aeruginosa* y *Salmonella typhimurium* (Kachur & Suntres, 2019). Un posible mecanismo de acción se basa en la hidrofobicidad del carvacrol y el timol que facilita la interacción de estos compuestos con los lípidos de la membrana celular bacteriana y las mitocondrias (Butnariu, 2021; Kachur & Suntres, 2019). Esto conduce a una alteración de la estructura de la membrana que aumenta su permeabilidad y provoca pérdida del contenido celular y mayor facilidad de ingreso de antibióticos y otras moléculas. Además, se produce reducción del pH en el citoplasma, disminución en la síntesis de ATP y cambio en el potencial de membrana, lo que finalmente ocasiona la muerte bacteriana (Butnariu, 2021; Kachur & Suntres, 2019).

The rapid formation of biofilms in *P. aeruginosa* is associated with the characteristics of its cell surface, which facilitate initial adhesion. In this process, flagella, pili, and capsular proteins play an important role, allowing the bacterium to attach to surfaces and initiate biofilm formation (Reyes-Jurado et al., 2020; Xu et al., 2019). The ability to form biofilms is also associated with factors such as virulence-related colonization, environmental survival, antibiotic resistance, and the characteristics of the surrounding medium and surface. Figure 1 shows some of the main virulence factors of *P. aeruginosa*.

Several studies have shown that essential oils affect *P. aeruginosa* by disrupting biofilms, causing cell deformation, reducing the production of extracellular polymeric substances, and inhibiting quorum sensing (QS) signaling molecules, thereby limiting bacterial adhesion and the maintenance of biofilms (Ganesh & Vittal 2015; Stojanovic-Radic et al., 2016).

Oregano essential oil affects bacterial cells mainly through two mechanisms: 1) alterations of the cell membrane and 2) disruption of biofilms (Figure 2). The antimicrobial activity of oregano essential oils against *P. aeruginosa* is largely explained by their hydrophobicity; the major compounds thymol and carvacrol interact with lipopolysaccharides in the semipermeable bacterial cell membrane, allowing them to penetrate through it (Butnariu, 2021; Kachur & Suntres, 2019) (Figure 2A). On the other hand, the inhibition or delay of biofilm formation is attributed to the ability of essential oils to interfere with bacterial adhesion (Figure 2B) (Bolívar-Vargas et al., 2021; Cuervo-Parra et al., 2024).

Uno de los mecanismos característicos de *P. aeruginosa*, que contribuye a su tolerancia alta a los antibióticos, es la formación de biopelículas (Luciardi et al., 2021; Thi et al., 2020). Estas son estructuras complejas formadas por comunidades bacterianas envueltas en una matriz polimérica, la cual confiere un escudo mecánico y bioquímico, y crea un entorno propicio para reducir la eficacia de los fármacos. Las biopelículas pueden formarse en una variedad amplia de superficies, siendo relevantes en las superficies de tuberías, cintas transportadoras y equipos de producción en la industria alimentaria, así como en dispositivos médicos o tejidos biológicos (Alexandre et al., 2025; Jannat et al., 2023; Singh et al., 2017).

La formación rápida de biopelículas en *P. aeruginosa* se relaciona con las características de su superficie celular, que facilitan la adhesión inicial. En este proceso, los flagelos, los pili y las proteínas de cápsula desempeñan un papel importante, ya que permiten que la bacteria se fije a las superficies y comience a formar la biopelícula (Reyes-Jurado et al., 2020; Xu et al., 2019). La capacidad de formación de biopelículas se asocia con factores como la colonización por virulencia bacteriana, la supervivencia ambiental, la resistencia a los antibióticos, las características del medio y de la superficie. La Figura 1 muestra algunos de los principales factores de virulencia de *P. aeruginosa*.

Diversos estudios han demostrado que los aceites esenciales afectan a *P. aeruginosa* mediante la desintegración de biopelículas, deformación de células, reducción de la producción de sustancias poliméricas extracelulares e inhibición de moléculas de percepción de *quorum* (QS por sus siglas en inglés), lo que limita

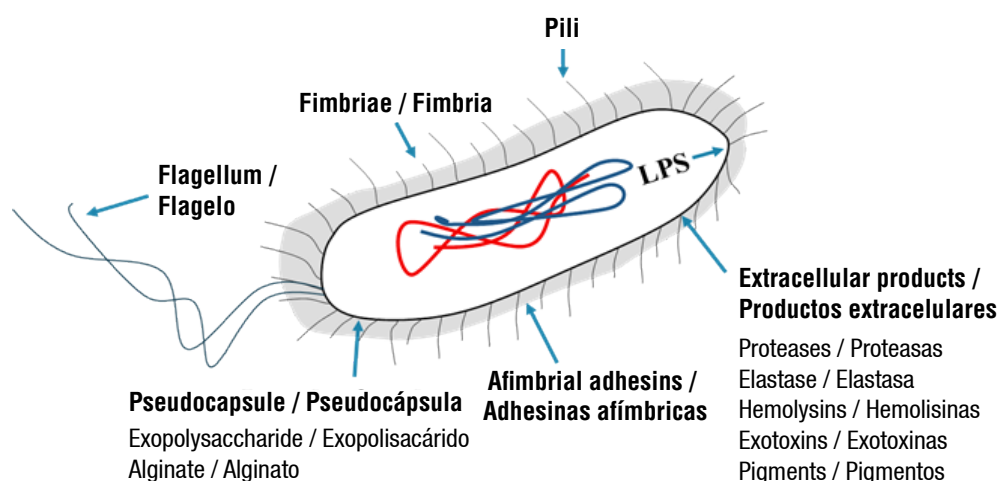


Figure 1. Virulence factors (structural and secreted) of *Pseudomonas aeruginosa* associated with biofilm-forming capacity. LPS: Lipopolysaccharides. Source: Compiled by the author based on Thi et al. (2020).

Figura 1. Factores de virulencia (estructurales y secretados) de *Pseudomonas aeruginosa* asociados a la capacidad de formación de biopelículas. LPS: Lipopolisacáridos. Fuente: elaboración propia a partir de Thi et al. (2020).

Regarding biofilm formation and adhesion inhibition, it has been documented that thymol, carvacrol, and eugenol (the major compound in clove essential oil) have significant effects on the *P. aeruginosa* strains ATCC 27853 and CIP A22 at 0.5 CMI (El Abed et al., 2011; Koraichi Saad et al., 2011). Koraichi Saad et al. (2011) observed a stronger inhibitory effect on adhesion with 0.4 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ of carvacrol and 1.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ of thymol,

la adhesión bacteriana y el mantenimiento de las biopelículas (Ganesh & Vittal 2015; Stojanovic-Radic et al., 2016).

El aceite esencial de orégano afecta a las células bacterianas principalmente por dos mecanismos: 1) modificaciones de la membrana celular y 2) destrucción de biopelículas (Figura 2). La acción antimicrobiana de

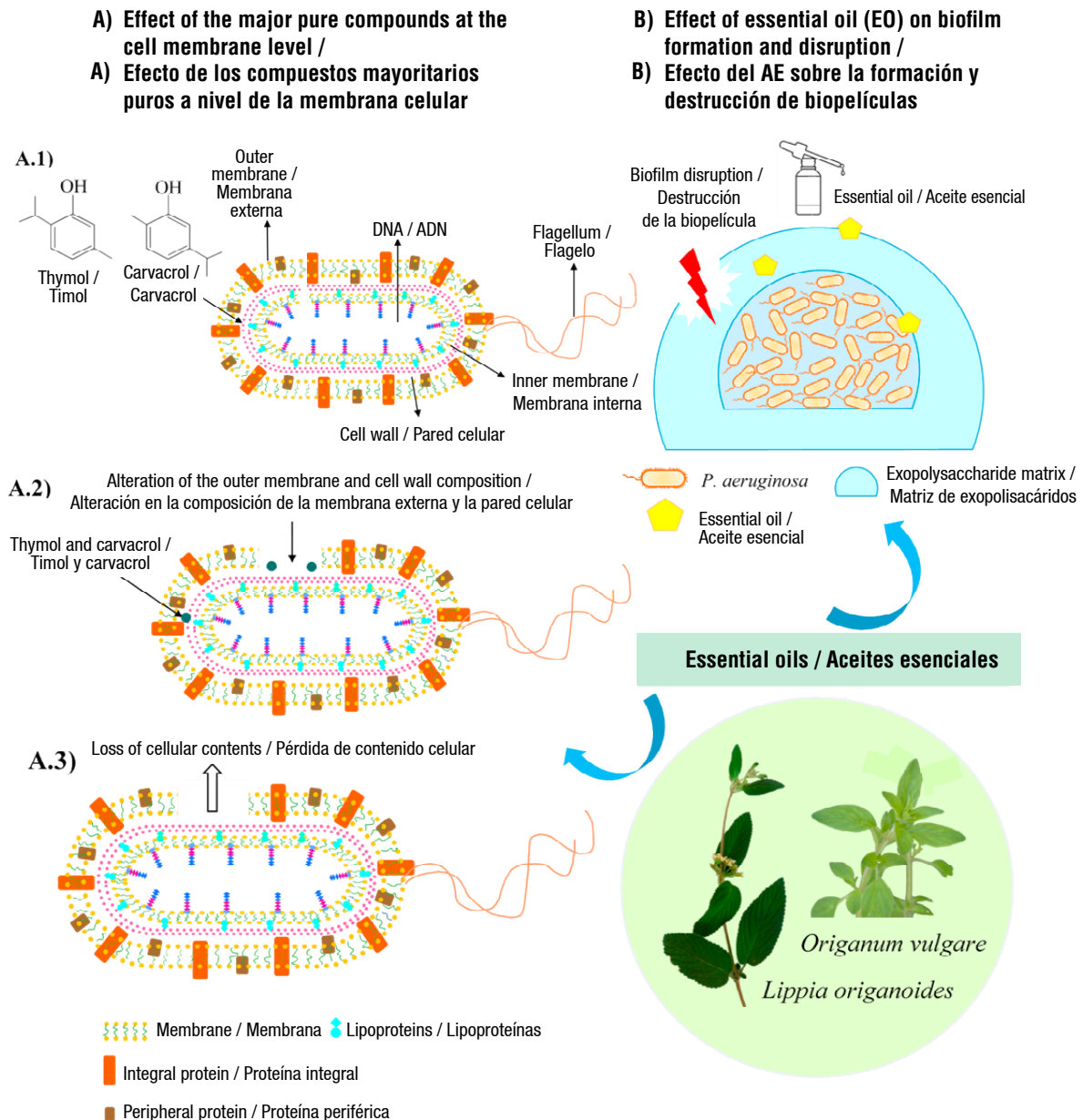


Figure 2. Mechanisms by which oregano essential oil (EO) affects bacterial cells of *Pseudomonas aeruginosa*. A) Effect of the major pure compound of the essential oil at the cell membrane level. B) Effect of the essential oil on the formation and disruption of biofilms. Source: Compiled by the author based on Bolívar-Vargas et al. (2021), Butnariu (2021), Cuervo-Parra et al. (2024) and Kachur and Suntres (2019).

Figura 2. Formas en que el aceite esencial (AE) de orégano afecta a las células bacterianas de *Pseudomonas aeruginosa*. A) Efecto de los compuestos mayoritarios puros del aceite esencial a nivel de la membrana celular. B) Efecto del aceite esencial sobre la formación y destrucción de biopelículas. Fuente: elaboración propia a partir de Bolívar-Vargas et al. (2021), Butnariu (2021), Cuervo-Parra et al. (2024) y Kachur y Suntres (2019).

equivalent to two times the MIC. In the case of *P. aeruginosa* ATCC 27853, thymol and carvacrol inhibited by 89 ± 6.3 % and 97 ± 8.5 %, respectively, whereas for *P. aeruginosa* CIP A22, inhibition of 69 ± 6.8 % with thymol and 72 ± 4.6 % with carvacrol were recorded. In general, carvacrol and thymol not only inhibit the growth of *P. aeruginosa* biofilms but also interfere with their formation during planktonic growth (Koraichi Saad et al., 2011; Raei et al., 2017; Walczak et al., 2021).

In the ATCC 27853 strain, El Abed et al. (2011) found that adhesion inhibition reached 87 ± 6.5 % with carvacrol, 75 ± 3.2 % with thymol and 69 ± 2.1 % with eugenol. In contrast, for the CIP A22 strain, the values were 57 ± 4.2 % with carvacrol, 49 ± 5.8 % with thymol, and 60 ± 3.9 % with eugenol. Among the three compounds, carvacrol was the most effective at $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, whereas thymol required a higher concentration ($0.25 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) to achieve a comparable effect. Eugenol also stands out for its potential as an antimicrobial and anti-adhesion agent. At a concentration of $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (equivalent to 50 % of the MIC), eugenol inhibited more than 90 % of biofilm formation in the *P. aeruginosa* ATCC 27853 strain (El Abed et al., 2011). This concentration was also the most effective at reducing planktonic growth and inhibiting bacterial adhesion and biofilm formation (Koraichi Saad et al., 2011; Raei et al., 2017; Walczak et al., 2021).

On the other hand, rather than using pure compounds individually, Reyes-Jurado et al. (2020) evaluated the effect of the essential oil of *L. origanoides* on the inhibition of biofilm development by *P. aeruginosa* ATCC 14210. The oil delayed biofilm development on stainless steel surfaces, at doses of $400 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ for 24 h and $600 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ for 18 h. In this essential oil, thymol and carvacrol were the most abundant components. Similarly, Zapién-Chavarría et al. (2019) analyzed the effectiveness of *L. origanoides* essential oils against bacteria associated with urinary tract infections and multidrug resistance. Among a total of 61 bacterial isolates, the author identified *P. aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis* as strong biofilm-forming species. The essential oil showed bactericidal activity, with *E. faecalis* being the most susceptible species and *P. aeruginosa* the most resistant, confirming its potential as a therapeutic alternative against several multidrug-resistant bacterial species.

Similarly, the activity of *O. vulgare* essential oil was evaluated against bacteria isolated from meat products, including *P. aeruginosa* (De Farias Diniz et al., 2024). The results showed that the oil exhibited minimum inhibitory concentrations (MIC) ranging from 32 to $512 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ and minimum bactericidal concentration (MBC) between 128 and $512 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. The oil effectively inhibited the adhesion of *P. aeruginosa* in the presence

los aceites esenciales de orégano contra *P. aeruginosa* se explica por la hidrofobicidad; los compuestos mayoritarios timol y carvacrol interactúan con los lipopolisacáridos de la membrana celular semipermeable de la bacteria, penetrando a través de ella (Butnariu, 2021; Kachur & Suntres, 2019) (Figura 2A). Por otro lado, la inhibición o el retraso en la formación de biopelículas se atribuye a la capacidad de los aceites esenciales para interferir en la adherencia bacteriana (Figura 2B) (Bolívar-Vargas et al., 2021; Cuervo-Parra et al., 2024).

Con relación a la formación de biopelículas e inhibición de adherencia, se ha documentado que el timol, el carvacrol y el eugenol –molécula mayoritaria en el aceite esencial de clavo– tienen efectos significativos en las cepas ATCC 27853 y CIP A22 de *P. aeruginosa* a 0.5 CMI (El Abed et al., 2011; Koraichi Saad et al., 2011). Koraichi Saad et al. (2011) observaron mayor efecto inhibidor de la adherencia con $0.4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ de carvacrol y $1.0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ de timol, equivalentes a dos veces la CMI; en el caso de la cepa *P. aeruginosa* ATCC 27853, el timol y carvacrol inhibieron 89 ± 6.3 % y 97 ± 8.5 %, respectivamente, mientras que para la cepa *P. aeruginosa* CIP A22, se registró inhibición de 69 ± 6.8 % con timol y 72 ± 4.6 % con carvacrol. En general, el carvacrol y el timol no solo inhiben el crecimiento de biopelículas de *P. aeruginosa*, sino que también interfieren en su formación durante el crecimiento planctónico (Koraichi Saad et al., 2011; Raei et al., 2017; Walczak et al., 2021).

En la cepa ATCC 27853, El Abed et al. (2011) encontraron que la inhibición de adherencia fue de 87 ± 6.5 % con carvacrol, 75 ± 3.2 % con timol y 69 ± 2.1 % con eugenol; mientras que para la cepa CIP A22, los valores fueron 57 ± 4.2 % con carvacrol, 49 ± 5.8 % con timol y 60 ± 3.9 % con eugenol. Entre los tres compuestos, el carvacrol fue el más eficaz a $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, mientras que el timol requirió una concentración más alta ($0.25 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). El eugenol también destaca por su potencial como agente antimicrobiano y antiadherente; a una concentración de $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (equivalente al 50 % de la CMI), el eugenol inhibió más del 90 % de la biopelícula de la cepa *P. aeruginosa* ATCC 27853 (El Abed et al., 2011). Esta concentración también fue la más eficiente para reducir el crecimiento planctónico de la bacteria, así como para inhibir la adherencia y la formación de biopelículas (Koraichi Saad et al., 2011; Raei et al., 2017; Walczak et al., 2021).

Por otra parte, en lugar de emplear compuestos puros de manera aislada, Reyes-Jurado et al. (2020) evaluaron el efecto del aceite esencial de *L. origanoides* sobre la inhibición del desarrollo de biopelículas de *P. aeruginosa* ATCC 14210; el aceite retrasó el desarrollo de las biopelículas en superficies de acero inoxidable, con dosis de $400 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ durante 24 h y $600 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ durante 18 h. En este aceite, el timol y el carvacrol fueron los

of sucrose, although it had no effect on *Klebsiella pneumoniae* or *Staphylococcus saprophyticus*, indicating selective activity against certain pathogens. On the other hand, Schillaci et al. (2013) demonstrated that the essential oil of *O. vulgare* subsp. *hirtum*, containing 57 % thymol and 19 % γ -terpinene, showed the highest average effectiveness against the formation of *P. aeruginosa* biofilms, with inhibition values ranging from 30 to 52 % at 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. When preformed biofilms were treated, the sample containing 25 % thymol and 35 % γ -terpinene inhibited 53.2 % of the biofilm at a concentration of 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

Although thymol and carvacrol stand out for their ability to inhibit and disrupt *P. aeruginosa* biofilms, particularly when combined with eugenol, their effectiveness depends on the strain, metabolite concentration, and the chemical composition of the essential oil. However, the intrinsic resistance of *P. aeruginosa* requires further research to determine optimal doses, potential synergistic interactions, and limitations for practical applications.

Similar effects of thymol and carvacrol have also been reported in other pathogens. For example, the essential oil of *L. origanoides*, containing 32.7 % thymol and 18.8 % carvacrol, reduces the expression of genes associated with biofilm formation in *S. aureus* and of genes related to motility and adhesion in *E. coli* (Martínez et al., 2023). In addition to regulating genes that inhibit biofilm formation, it also reduces the expression of genes involved in QS, exopolysaccharide production, α -hemolysin synthesis, and transcriptional regulators of toxins (Martínez et al., 2023). Similarly, the essential oil of *L. graveolens* (a synonym of *L. origanoides*) and its major compounds, carvacrol and thymol, inhibit the formation of *Acinetobacter baumannii* biofilms on stainless steel surfaces (Tapia-Rodríguez et al., 2023). Subinhibitory doses effectively reduce biofilm formation and motility mediated by type IV pili, structures that are also present in *P. aeruginosa* (Rossy et al., 2023).

Carvacrol is the most effective compound in inhibiting biofilm formation and adhesion, followed by the essential oil and thymol, as it interferes with the synthesis, assembly, and function of pili, thereby reducing bacterial motility and adhesion (Tapia-Rodríguez et al., 2023; Rossy et al., 2023). Evidence indicates that both the essential oils of *O. vulgare* and *L. origanoides* and their major components (thymol and carvacrol) have consistent effects in controlling *P. aeruginosa* and other pathogenic bacteria. This makes them promising candidates as alternatives to conventional antibiotics. However, their relative efficacy varies across studies, suggesting the presence

componentes más abundantes. Zapién-Chavarría et al. (2019) también analizaron la efectividad de los aceites esenciales de *L. origanoides* contra bacterias asociadas a infecciones urinarias y que son resistentes a múltiples fármacos. En un total de 61 aislados bacterianos, los autores identificaron a *P. aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Enterococcus faecalis* como fuertes formadores de biopelículas. El aceite mostró actividad bactericida, siendo *E. faecalis* la especie más susceptible y *P. aeruginosa* la más resistente, lo que confirma su potencial como alternativa terapéutica frente a varias especies bacterianas multirresistentes.

En una línea similar, se evaluó la actividad del aceite esencial de *O. vulgare* contra bacterias aisladas de productos cárnicos, incluyendo *P. aeruginosa* (De Farias Diniz et al., 2024). Los resultados mostraron que el aceite tenía concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) entre 32 y 512 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ y concentraciones mínimas bactericidas (CMB) entre 128 y 512 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. El aceite inhibió eficazmente la adhesión de *P. aeruginosa* en presencia de sacarosa, aunque no tuvo efecto sobre *Klebsiella pneumoniae* ni *Staphylococcus saprophyticus*, lo que indica una actividad selectiva frente a los patógenos. Por otro lado, Schillaci et al. (2013) demostraron que el aceite esencial de *O. vulgare* subsp. *hirtum* con 57 % de timol y 19 % de γ -terpineno tuvo la mayor efectividad promedio contra las biopelículas de *P. aeruginosa* en formación con inhibiciones del 30 al 52 % a una concentración de 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Cuando se trataron biopelículas preformadas, la muestra con 25 % de timol y 35 % de γ -terpineno inhibió 53.2 % a una concentración de 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

Aunque el timol y el carvacrol destacan por su capacidad de inhibir y desintegrar biopelículas de *P. aeruginosa*, especialmente en combinación con eugenol, su eficacia depende de la cepa, la concentración de los metabolitos y la composición química del aceite; sin embargo, la resistencia intrínseca de *P. aeruginosa* requiere profundizar en la exploración de dosis óptimas, sinergias y limitaciones en aplicaciones prácticas.

En otros patógenos también se ha encontrado efecto del timol y carvacrol. Por ejemplo, el aceite esencial de *L. origanoides*, con 32.7 % de timol y 18.8 % de carvacrol, disminuye la expresión de genes asociados con la formación de biopelícula en *S. aureus* y de genes relacionados con la motilidad y adherencia en *E. coli* (Martínez et al., 2023). Además de que regula los genes que inhiben la formación de biopelículas, también reduce la expresión de genes implicados en la comunicación por QS, producción de exopolisacáridos, síntesis de alfa hemolisina y reguladores transcripcionales de toxinas (Martínez et al., 2023). De manera similar, el aceite esencial de *L.*

of poorly understood interactions and highlighting the need for broader comparative research.

Cytotoxicity of essential oils

Essential oils are considered natural products; however, their safety for human use remains under debate because certain components may pose toxicological risks. Some studies indicate that phenolic and polyphenolic compounds are responsible for the cytotoxic activity of oregano (Criollo-Mendoza et al., 2022; De Almeida et al., 2022). Evidence suggests that the essential oil of *L. origanoides*, which is rich in phenols, shows cytotoxic activity and antiproliferative potential against breast cancer cell lines (Criollo-Mendoza et al., 2022). On the other hand, essential oils of *L. origanoides* (thymol and carvacrol chemotypes) have been reported to be toxic when administered orally and to act as irritants when applied undiluted. Nevertheless, at low concentrations, these oils may be safe for the treatment of cutaneous diseases such as leishmaniasis and for use as food additives (Neira et al., 2018). In summary, the use of essential oils should be careful and controlled, with particular attention to dosage and frequency of administration to avoid adverse effects. Furthermore, it is essential to determine appropriate concentrations of essential oils for their use in foods to minimize adverse effects on safety and sensory properties, thereby facilitating consumer acceptance.

Conclusions

The antimicrobial activity of the essential oils of *Origanum vulgare* and *Lippia origanoides* is mainly attributed to their major compounds, thymol and carvacrol. These compounds are effective against *Pseudomonas aeruginosa*, a bacterium of relevance in the food industry and public health due to its ability to form biofilms and resist conventional antimicrobials. In this context, essential oils may interfere with bacterial adhesion, inhibiting both bacterial growth and biofilm formation. However, in addition to the strain, the effectiveness of essential oils also depends on their concentration and chemical composition, which in turn is determined by genetic and environmental factors. Therefore, further studies are needed to evaluate their safety, potential cytotoxic effects, and the optimal concentrations of essential oils for their application as antimicrobial agents against *P. aeruginosa* in the food industry and in public health service settings.

Acknowledgments

We would like to express our sincere gratitude to Dra. María de los Ángeles Sánchez Contreras (CIATEJ,

graveolens (sinónimo de *L. origanoides*) y sus compuestos mayoritarios, carvacrol y timol, inhiben la formación de biopelículas de *Acinetobacter baumannii* en superficies de acero inoxidable (Tapia-Rodríguez et al., 2023). Dosis subinhibitorias reducen eficazmente la formación de biopelículas y la motilidad mediada por pili tipo IV, estructuras también presentes en *P. aeruginosa* (Rossy et al., 2023).

El carvacrol es el compuesto más eficaz en inhibir la formación y adhesión de biopelículas, seguido del aceite esencial y el timol, debido a que interfiere con la síntesis, ensamblaje y función de los pili, lo cual disminuye la motilidad y la adhesión bacteriana (Tapia-Rodríguez et al., 2023; Rossy et al., 2023). La evidencia muestra que tanto el aceite esencial de *O. vulgare* y *L. origanoides* como sus componentes mayoritarios (timol y carvacrol) tienen efectos consistentes para el control de *P. aeruginosa* y otras bacterias patógenas. Esto los convierte en candidatos prometedores como alternativos a los antibióticos convencionales. No obstante, la eficacia relativa varía entre estudios, lo que apunta a interacciones poco conocidas y a la necesidad de investigaciones comparativas más amplias.

Citotoxicidad de los aceites esenciales

Los aceites esenciales son considerados productos naturales, aunque su seguridad ha generado controversia debido a que ciertos componentes pueden presentar riesgos toxicológicos. Algunos estudios señalan que los compuestos fenólicos y polifenólicos son los responsables de la actividad citotóxica del orégano (Criollo-Mendoza et al., 2022; De Almeida et al., 2022). Existen evidencias que sugieren que el aceite esencial de *L. origanoides*, rico en fenoles, tiene actividad citotóxica y potencial antiproliferativo sobre líneas celulares del cáncer de mama (Criollo-Mendoza et al., 2022). Por otro lado, se ha reportado que los aceites esenciales de *L. origanoides* (quimiotipos timol y carvacrol) son tóxicos cuando se administran por vía oral y actúan como irritantes cuando se aplican puros. No obstante, en concentraciones bajas, estos aceites pueden ser seguros para el tratamiento de enfermedades cutáneas como la leishmaniasis y como aditivos alimentarios (Neira et al., 2018). En resumen, el uso de aceites esenciales debe ser cuidadoso y controlado, prestando atención a la dosis y la frecuencia de administración para evitar efectos adversos. Asimismo, resulta fundamental determinar las concentraciones adecuadas de los aceites esenciales para su uso en alimentos, de modo que se minimicen efectos adversos sobre la seguridad y las propiedades sensoriales, facilitando su aceptación por los consumidores.

Mérida) and to two anonymous reviewers for their valuable comments, which helped improve the quality and clarity of this manuscript.

Conflict of Interest Declaration

The authors declare that they have no economic conflicts of interest or known personal relationships that could have influenced the research presented in this article.

Declaration of Artificial Intelligence (AI) Use

The authors declare that no generative AI or AI-assisted technology was used in the preparation of this manuscript.

End of English version

References / Referencias

- Akkaoui, S., Johansson, A., Yagoubi, M., Haubek, D., Hamidi, A. E., Rida, S., Claesson, R., & Ennibi, O. K. (2020). Chemical composition, antimicrobial activity, in vitro cytotoxicity and leukotoxin neutralization of essential oil from *Origanum vulgare* against *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Pathogens*, 9(3), 192. <https://doi.org/10.3390/pathogens9030192>
- Alexandre, M. A. S., de Santana, T. N., Pena, L. A., Duarte, A. M., dos Santos, L. C., Alves, S. J. F., Dias, R. M., Oliveira, A. V. de A., Machado, S. G., & Eller, M. R. (2025). A comprehensive review on the prevalence and issues caused by *Pseudomonas* spp. in food. *Food Control*, 177, 111428. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2025.111428>
- Bautista-Hernández, I., Aguilar, C. N., Martínez-Ávila, G. C. G., Torres-León, C., Iliina, A., Flores-Gallegos, A. C., Verma, D. K., & Chávez-González, M. L. (2021). Mexican oregano (*Lippia graveolens* Kunth) as source of bioactive compounds: a review. *Molecules*, 26(17), 5156. <https://doi.org/10.3390/molecules26175156>
- Béjaoui, A., Chaabane, H., Jemli, M., Boulila, A., & Boussaid, M. (2013). Essential oil composition and antibacterial activity of *Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* Desf. at different phenological stages. *Journal of Medicinal Food*, 16(12), 1115–1120. <https://doi.org/10.1089/jmf.2013.0079>
- Bolívar-Vargas, A. F., Torres-Caycedo, M. I., & Sánchez-Neira, Y. (2021). Biofilms of *Pseudomonas aeruginosa* como mecanismos de resistencia y tolerancia a antibióticos. Revisión narrativa. *Revista de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad del Cauca*, 23(2), 47–57. <https://doi.org/10.47373/rfcs.2021.v232.1780>
- Bouyahya, A., Dakka, N., Talbaoui, A., Et-Touys, A., El-Boury, H., Abrini, J., & Bakri, Y. (2017). Correlation between phenological changes, chemical composition and biological activities of the essential oil from Moroccan endemic oregano (*Origanum*

Conclusiones

La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de *Origanum vulgare* y *Lippia origanoides* se atribuye principalmente a sus compuestos mayoritarios timol y carvacrol. Estos compuestos son eficaces contra *Pseudomonas aeruginosa*, una bacteria relevante en la industria alimentaria y en la salud pública, debido a la capacidad de formar biopelículas y resistir antimicrobianos convencionales. En este sentido, los aceites pueden interferir en la adhesión bacteriana, inhibiendo tanto el crecimiento de la bacteria como la formación de biopelículas. No obstante, además de la cepa bacteriana, la eficacia de los aceites esenciales también depende de su concentración y composición química, determinada a su vez por factores genéticos y ambientales. Es fundamental realizar estudios sobre su seguridad, posibles efectos citotóxicos y las concentraciones óptimas de los aceites esenciales para su aplicación como agentes antimicrobianos contra *P. aeruginosa* en la industria alimentaria y en escenarios de los servicios de salud pública.

Agradecimientos

Expresamos nuestro agradecimiento a la Dra. María de los Ángeles Sánchez Contreras (CIATEJ, Mérida) y a dos revisores anónimos por sus valiosas observaciones, que contribuyeron a mejorar la calidad y claridad de este manuscrito.

Declaración de conflicto de intereses

Los autores declaramos que no tenemos conflictos de intereses económicos ni relaciones personales conocidas que pudieran haber influido en el trabajo presentado en este artículo.

Declaración del uso de inteligencia artificial (IA)

Los autores declaramos no haber utilizado IA generativa o tecnologías asistidas por IA.

Fin de la versión en español

- compactum* Benth). *Industrial Crops and Products*, 108, 729–737. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.07.033>
- Butnariu, M. (2021). Plants as source of essential oils and perfumery applications. In S. Kumar Upadhyay, & S. P. Singh (Eds.), *Bioprospecting of plant biodiversity for industrial molecules* (pp. 261–292). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119718017.ch13>
- Calvo-Irabién, L. M., & Carnevali Fernández-Concha, G. (2021). ¿Debemos seguir llamando orégano mexicano a *Lippia graveolens* Kunth?: Esclareciendo el nombre del orégano

- mexicano. *Desde el Herbario CICY*, 13, 212–216. https://www.cicy.mx/Documentos/CICY/Desde_Herbario/2021/2021-11-04-Calvo_Carnevali-Debemos_seguir_llamando_oregano_mexicano.pdf
- Calvo-Irabién, L. M., Parra-Tabla, V., Acosta-Arriola, V., Escalante-Erosa, F., Díaz-Vera, L., Dzib, G., & Peña-Rodríguez, L. M. (2014). Phytochemical diversity of the essential oils of Mexican oregano (*Lippia graveolens* Kunth) populations along an edapho-climatic gradient. *Chemistry & Biodiversity*, 11(7), 1010–1021. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201300389>
- Chouhan, S., Sharma, K., & Guleria, S. (2017). Antimicrobial activity of some essential oils—present status and future perspectives. *Medicines*, 4(3), 58. <https://doi.org/10.3390/medicines4030058>
- Cid-Pérez, T., Ávila-Sosa, R., Ochoa-Velasco, C., Rivera-Chavira, B. E., & Nevárez-Moorillón, G. V. (2019). Antioxidant and antimicrobial activity of Mexican oregano (*Poliomntha longiflora*) essential oil, hydrosol and extracts from waste solid residues. *Plants*, 8(1), 22. <https://doi.org/10.3390/plants8010022>
- Criollo-Mendoza, M. S., Ramos-Payán, R., Contreras-Angulo, L. A., Gutiérrez-Grijalva, E. P., León-Félix, J., Villicaña, C., Angulo-Escalante, M. A., & Heredia, J. B. (2022). Cytotoxic activity of polyphenol extracts from three oregano species: *Hedeoma patens*, *Lippia graveolens* and *Lippia palmeri*, and antiproliferative potential of *Lippia graveolens* against two types of breast cancer cell lines (MDA-MB-231 and MCF-7). *Molecules*, 27(16), 5240. <https://doi.org/10.3390/molecules27165240>
- Cuervo-Parra, J. A., Aparicio-Burgos, J. E., Pérez-España, V. H., Morales-Ovando, M. A., Peralta-Gil, M., & Romero-Cortes, T. (2024). Bioquímica de la pared celular de Gram positivas y Gram negativas. *Pädi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI*, 12(23), 1–8. <https://doi.org/10.29057/icbi.v12i23.11450>
- De Almeida, P., Blanco-Pascual, N., Rosolen, D., Csilotto, J., Creczynski-Pasa, T. B., & Laurindo, J. B. (2022). Antioxidant and antifungal properties of essential oils of oregano (*Origanum vulgare*) and mint (*Mentha arvensis*) against *Aspergillus flavus* and *Penicillium commune* for use in food preservation. *Food Science and Technology*, 42. <https://doi.org/10.1590/fst.64921>
- De Falco, E., Roscigno, G., Landolfi, S., Scandolera, E., & Senatore, F. (2014). Growth, essential oil characterization, and antimicrobial activity of three wild biotypes of oregano under cultivation condition in southern Italy. *Industrial Crops and Products*, 62, 242–249. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.08.037>
- De Farias Diniz, A., De Sá Calixto Da Cruz, P., Mariz, W. S., Santos, V. R. L., De Oliveira Nóbrega, L. M. M., Simões, M. M., De Farias, J. H. A., Santos, B., & De Oliveira Filho, A. A. (2024). Evaluation of the antibacterial, modulatory and anti-adherent properties of oregano (*Origanum vulgare*) essential oil against food pathogenic bacteria. *Semina Ciências Agrárias*, 45(1), 7–22. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2024v45n1p7>
- De Jonghe, V., Coorevits, A., Van Hoorde, K., Messens, W., Van Landschoot, A., De Vos, P., & Heyndrickx, M. (2011). Influence of storage conditions on the growth of *Pseudomonas* species in refrigerated raw milk. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(2), 460–470. <https://doi.org/10.1128/aem.00521-10>
- El Abed, S., Houari, A., Latrache, H., Remmal, A., & Koraichi, S. I. (2011). In vitro activity of four common essential oil components against biofilm-producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Research Journal of Microbiology*, 6, 394–401. <https://doi.org/10.3923/jm.2011.394.401>
- Froio, F., Mosaddik, A., Morshed, M. T., Paolino, D., Fessi, H., & Elaißari, A. (2019). Edible polymers for essential oils encapsulation: application in food preservation. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 58(46), 20932–20945. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.9b02418>
- Ganesh, S., & Vittal, R. (2015). In vitro antibiofilm activity of *Murraya koenigii* essential oil extracted using supercritical fluid CO₂ method against *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Natural Product Research*, 29(24), 2295–2298. <https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1004673>
- García-Alor, L. A., Muguruza-Crispin, N. E., Miranda-Cabrera, D. J., & Macavilca-Ticlayauri, E. A. (2023). Uso de aceites esenciales en el envasado de alimentos. *Peruvian Agricultural Research*, 5(1), 56–68. <https://doi.org/10.51431/par.v1i1.818>
- Jannat, B., Alizadeh, A. M., Farshi, P., Dadgarnejad, M., Hosseini, H., Hashempour-Baltork, F., & Jafari, S. M. (2023). Anti-biofilm activity of essential oils in fruit and vegetables: A systematic review. *Food Control*, 152, 109875. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.109875>
- Kachur, K., & Suntres, Z. (2019). The antibacterial properties of phenolic isomers, carvacrol and thymol. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(18), 3042–3053. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1675585>
- Koraichi Saad, I., Hassan, L., Ghizlane, Z., Hind, M., & Adnane, R. (2011). Carvacrol and thymol components inhibiting *Pseudomonas aeruginosa* adherence and biofilm formation. *African Journal of Microbiology Research*, 5(20), 3229–3232. <https://doi.org/10.5897/ajmr.11.275>
- Kosakowska, O., & Czupa, W. (2018). Morphological and chemical variability of common oregano (*Origanum vulgare* L. subsp. *vulgare*) occurring in eastern Poland. *Herba Polonica*, 64(1), 11–21. <https://doi.org/10.2478/hepo-2018-0001>
- Kumari, K., Akhila, S., Rao, Y., & Devi, B. (2019). Alternative to artificial preservatives. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 10(1), 99–102. <https://doi.org/10.5530/srp.2019.1.17>
- Li, X., Gu, N., Huang, T. Y., Zhong, F., & Peng, G. (2023). *Pseudomonas aeruginosa*: A typical biofilm forming pathogen and an emerging but underestimated pathogen in food processing. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1114199>
- Luciardi, M. C., Blázquez, M. A., Alberto, M. R., Cartagena, E., & Arena, M. E. (2021). Lemon oils attenuate the pathogenicity of *Pseudomonas aeruginosa* by quorum sensing inhibition. *Molecules*, 26(10), 2863. <https://doi.org/10.3390/molecules26102863>
- Lukas, B., Schmiderer, C., & Novak, J. (2015). Essential oil diversity of European *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae). *Phytochemistry*, 119, 32–40. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2015.09.008>
- Martínez, A., Stashenko, E. E., Sáez, R. T., Zafra, G., & Ortiz, C. (2023). Effect of essential oil from *Lippia origanoides* on the transcriptional expression of genes related to quorum

- sensing, biofilm formation, and virulence of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Antibiotics*, 12(5), 845. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12050845>
- Medina-Romero, Y. M., Hernandez-Hernandez, A. B., Rodriguez-Monroy, M. A., & Canales-Martínez, M. M. (2021). Essential oils of *Bursera morelensis* and *Lippia graveolens* for the development of new biopesticides in postharvest control. *Scientific Reports*, 11, 20135. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-99773-0>
- Neira, L., Mantilla, J., Stashenko, E., & Escobar, P. (2018). Toxicidad, genotoxicidad y actividad anti-Leishmania de aceites esenciales obtenidos de cuatro quimiotipos del género *Lippia*. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 17(1), 68–83. <http://blacpma.ms-editions.cl/index.php/blacpma/article/view/36/30>
- Nicuță, D., Grosu, L., Alexa, I., & Finaru, A. (2024). Sustainable characterization of some extracts of *Origanum vulgare* L. and biosafety evaluation using *Allium cepa* assay. *Horticulturae*, 10(5), 504. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10050504>
- Onyeaka, H., Ghosh, S., Oibileke, K., Miri, T., Odeyemi, O. A., Nwaiwu, O., & Tamasiga, P. (2024). Preventing chemical contaminants in food: challenges and prospects for safe and sustainable food production. *Food Control*, 155, 110040. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.110040>
- Pinheiro, P. F., Menini, L. A. P., Bernardes, P. C., Saraiva, S. H., Carneiro, J. W., Costa, A. V., Arruda, T. R., Lage, M. R., Gonçalves, P. M., De Oliveira Bernardes, C., Alvarenga, E. S., & Menini, L. (2017). Semisynthetic phenol derivatives obtained from natural phenols: antimicrobial activity and molecular properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(1), 323–330. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b04418>
- Raei, P., Pourlak, T., Memar, M. Y., Alizadeh, N., Aghamali, M., Zeinalzadeh, E., Asgharzadeh, M., & Kafil, H. S. (2017). Thymol and carvacrol strongly inhibit biofilm formation and growth of carbapenemase-producing Gram negative bacilli. *Cellular and Molecular Biology*, 63(5), 108–112. <https://doi.org/10.14715/cmb/2017.63.5.20>
- Reyes-Jurado, F., Munguía-Pérez, R., Cid-Pérez, T. S., Hernández-Carranza, P., Ochoa-Velasco, C. E., & Ávila-Sosa, R. (2020). Inhibitory effect of Mexican oregano (*Lippia berlandieri* Schauer) essential oil on *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella thyphimurium* biofilm formation. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4, 1–6. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00036>
- Rossy, T., Distler, T., Meirelles, L. A., Pezoldt, J., Kim, J., Talà, L., Bouklas, N., Deplancke, B., & Persat, A. (2023). *Pseudomonas aeruginosa* type IV pili actively induce mucus contraction to form biofilms in tissue-engineered human airways. *PLoS Biology*, 21(8), e3002209. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3002209>
- Schillaci, D., Napoli, E. M., Cusimano, M. G., Vitale, M., & Ruberto, G. (2013). *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* essential oil prevented biofilm formation and showed antibacterial activity against planktonic and sessile bacterial cells. *Journal of Food Protection*, 76(10), 1747–1752. <https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-13-001>
- Singh, S., Singh, S. K., Chowdhury, I., & Singh, R. (2017). Understanding the mechanism of bacterial biofilms resistance to antimicrobial agents. *The Open Microbiology Journal*, 11, 53–62. <https://doi.org/10.2174/1874285801711010053>
- Stashenko, E. E., Martínez, J. R., Ruíz, C. A., Arias, G., Durán, C., Salgar, W., & Cala, M. (2010). *Lippia organoides* chemotype differentiation based on essential oil GC-MS and principal component analysis. *Journal of Separation Science*, 33(1), 93–103. <https://doi.org/10.1002/jssc.200900452>
- Stefanaki, A., & van Andel, T. (2021). Mediterranean aromatic herbs and their culinary use. In C. M. Galanakis (Ed.), *Aromatic herbs in food: Bioactive compounds, processing, and applications* (pp. 93–121). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-822716-9.00003-2>
- Stojanović-Radić, Z., Stojanović, N., Sharifi-Rad, J., & Stanković, N. (2016). Potential of *Ocimum basilicum* L. and *Salvia officinalis* L. essential oils against biofilms of *P. aeruginosa* clinical isolates. *Cellular and Molecular Biology*, 62(9), 27–33. <http://mail.cellmolbiol.org/index.php/CMB/article/view/917>
- Šojić, B., Milošević, S., Savanović, D., Zeković, Z., Tomović, V., & Pavlič, B. (2023). Isolation, bioactive potential, and application of essential oils and terpenoid-Rich extracts as effective antioxidant and antimicrobial agents in meat and meat products. *Molecules*, 28(5), 2293. <https://doi.org/10.3390/molecules28052293>
- Tapia-Rodríguez, M. R., Cantu-Soto, E. U., Vazquez-Armenta, F. J., Bernal-Mercado, A. T., & Ayala-Zavala, J. F. (2023). Inhibition of *Acinetobacter baumannii* biofilm formation by terpenes from Oregano (*Lippia graveolens*) essential oil. *Antibiotics*, 12(10), 1539. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12101539>
- Thi, M. T. T., Wibowo, D., & Rehm, B. H. A. (2020). *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22), 8671. <https://doi.org/10.3390/ijms21228671>
- Uc-Cachón, A. H., Calvo-Irabién, L. M., Dzul-Beh, A. D. J., Dzib-Baak, H. E., Grijalva-Arango, R., & Molina-Salinas, G. M. (2024). Potential anti-infectious activity of essential oil chemotypes of *Lippia organoides* Kunth on antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Plants*, 13(9), 1172. <https://doi.org/10.3390/plants13091172>
- United Nations Environment Programme (UNEP). (2024). *Food waste index report 2024: Think eat save – tracking progress to halve global food waste*. Author. <https://wedocs.unep.org/20.500.11822/45230>
- Walczak, M., Michalska-Sionkowska, M., Olkiewicz, D., Tarnawska, P., & Warzyńska, O. (2021). Potential of carvacrol and thymol in reducing biofilm formation on technical surfaces. *Molecules*, 26(9), 2723. <https://doi.org/10.3390/molecules26092723>
- World Health Organization (WHO). (2024). *WHO bacterial priority pathogens list, 2024: Bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance*. Author. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240093461>
- Xu, Z., Xie, J., Soteyome, T., Peters, B. M., Shirtliff, M. E., Liu, J., & Harro, J. M. (2019). Polymicrobial interaction and biofilms between *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*: an underestimated concern in food safety. *Current Opinion in Food Science*, 26, 57–64. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.03.006>
- Yin, C., Alam, M., Fallon, J., & Huang, W. (2024). Advances in development of novel therapeutic strategies against multi-

- drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antibiotics*, 13, 119. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13020119>
- Yun, J., Wu, C., Li, X., & Fan, X. (2018). Improving the microbial food safety of fresh fruits and vegetables with aqueous and vaporous essential oils. In X. Fan, H. Ngo, & C. Wu (Eds.), *Natural and bio-based antimicrobials for food applications* (pp. 87–117). American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/bk-2018-1287.ch005>
- Zapién-Chavarría, K. A., Plascencia-Terrazas, A., Venegas-Ortega, M. G., Varillas-Torres, M., Rivera-Chavira, B. E., Adame-Gallegos, J. R., González-Rangel, M. O., & Nevárez-Moorillón, G. V. (2019). Susceptibility of multidrug-resistant and biofilm-forming uropathogens to Mexican oregano essential oil. *Antibiotics*, 8(4), 186. <https://doi.org/10.3390/antibiotics8040186>